



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
QMC5510 – ESTÁGIO SUPERVISIONADO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO
LIGANTE AMINOFENÓLICO DE INTERESSE
FARMACOLÓGICO**

Acadêmica: Silvia Herartt Lopes

Orientador: Prof. Dr. Adailton J. Bortoluzzi

Florianópolis, junho de 2005.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
QMC5510 – ESTÁGIO SUPERVISIONADO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO
LIGANTE AMINOFENÓLICO COM RELEVÂNCIA
FARMACOLÓGICA**

Silvia Herartt Lopes

Relatório apresentado ao Curso de
Graduação em Química da Universidade
Federal de Santa Catarina – UFSC,
para a obtenção da aprovação na
disciplina QMC5510 – Estágio
Supervisionado sob orientação do Prof.
Dr. Adailton J. Bortoluzzi.

Florianópolis, junho de 2005.

**“Aprendemos a sabedoria com o
fracasso, muito mais do que com
o sucesso. Descobrimos o que fazer,
descobrimos o que não fazer, e provavelmente
aquele que nunca cometeu um erro
nunca fez uma descoberta.”**

Este trabalho é dedicado à
meus pais Manuel e Ivone e ao meu
namorado Maikon pelo apoio, dedicação
e compreensão durante toda esta etapa.

AGRADECIMENTOS

A minha família, por todo apoio, estímulo, compreensão e amparo durante todos estes anos de estudo.

Aos meus amigos e colegas de curso, pela amizade e companheirismo durante este percurso.

Ao professor Adailton Bortoluzzi, pela orientação, apoio e estímulo no decorrer da elaboração deste trabalho.

Aos amigos do LABINC, Rosely, Annelise e Rafael pela colaboração, auxílio, sugestões e críticas que contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos demais colegas e amigos do laboratório que colaboraram fazendo do ambiente de trabalho um local agradável e propício a discussões e trocas de experiências.

Ao meu namorado, pelo auxílio, carinho e muita paciência durante a elaboração deste trabalho.

Em especial a Deus, pela presença constante.

SUMÁRIO

| | | |
|---------|---|----|
| | RESUMO | 9 |
| 1 | INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.1 | MEDICINA NUCLEAR | 11 |
| 1.1.1 | RADIOFÁRMACOS | 13 |
| 1.2 | RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DE IMAGEM (MRI) | 14 |
| 1.3 | LIGANTES DE INTERESSE FARMACOLÓGICO | 16 |
| 2 | OBJETIVOS | 20 |
| 2.1 | OBJETIVOS GERAIS | 20 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 20 |
| 3 | PARTE EXPERIMENTAL | 21 |
| 3.1 | MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E MÉTODOS DE ANÁLISE | 21 |
| 3.1.1 | Reagentes e Solventes | 21 |
| 3.1.2 | Equipamentos | 22 |
| 3.1.2.1 | Equipamentos usados nas caracterizações | 22 |
| 3.1.3 | Métodos de análise | 23 |
| 3.1.3.1 | Espectroscopia no Infravermelho (IV) | 23 |
| 3.1.3.2 | Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | 23 |
| 3.2 | SÍNTESE DO LIGANTE | 24 |
| 3.2.1 | Síntese do 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (HMB) | 24 |
| 3.2.2 | Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formil-fenol (CMFF) | 25 |
| 3.2.3 | Síntese do N,N' – bis[(3-formil, 2-hidroxi, 5- metil)benzil]-N-[metil],N'-[2-piridilmetil]-1,3- propanodiamino (H ₂ L) | 26 |
| 3.2.3.1 | Síntese da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina | 26 |
| 3.2.3.2 | Síntese da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina | 27 |
| 3.2.3.3 | Síntese do H ₂ L | 27 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| 4.1 | Caracterização do precursor HMB | 29 |
| 4.1.1 | Espectroscopia no Infravermelho - IV | 29 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.1.2 | Espectroscopia de RMN ^1H | 30 |
| 4.2 | Caracterização do precursor CMFF | 31 |
| 4.2.1 | Espectroscopia no Infravermelho - IV | 31 |
| 4.2.2 | Espectroscopia de RMN ^1H | 33 |
| 4.3 | Caracterização da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina | 34 |
| 4.3.1 | Espectroscopia no Infravermelho - IV | 34 |
| 4.3.2 | Espectroscopia de RMN ^1H | 35 |
| 4.3.3 | Caracterização da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina | 36 |
| 4.3.3.1 | Espectroscopia no Infravermelho - IV | 36 |
| 4.3.3.2 | Espectroscopia de RMN ^1H | 38 |
| 4.3.4 | Caracterização do H_2L | 39 |
| 4.3.4.1 | Espectroscopia no Infravermelho - IV | 39 |
| 4.3.4.2 | Espectroscopia de RMN ^1H | 40 |
| 5 | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS | 42 |
| 6 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Reagentes utilizados nas etapas de síntese. | 21 |
| Tabela 2. Solventes utilizados nas etapas de síntese. | 22 |
| Tabela 3. Equipamentos utilizados nas análises deste trabalho. | 22 |
| Tabela 4. Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV do HMB | 30 |
| Tabela 5 Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H do HBM. | 31 |
| Tabela 6. Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV do CMFF. | 32 |
| Tabela 7. Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H do CMFF. | 33 |
| Tabela 8. Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina. | 35 |
| Tabela 9. Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina. | 36 |
| Tabela 10. Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina. | 37 |
| Tabela 11. Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina. | 40 |
| Tabela 12. Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV do H_2L | 40 |
| Tabela 13. Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H do H_2L . | 41 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Imagens da PET de um paciente com câncer de pâncreas. | 12 |
| Figura 2. Ligantes de relevância farmacológica. | 16 |
| Figura 3. Ligantes de relevância farmacológica mais elaborados. | 17 |
| Figura 4. Estrutura tridimensional do ligante H ₂ L. | 18 |
| Figura 5. Espectro no IV do precursor HMB em pastilha de KBr. | 29 |
| Figura 6. Espectro de RMN ¹ H do precursor HMB em CDCl ₃ . | 31 |
| Figura 7. Espectro no IV do precursor CMFF em pastilha de KBr. | 32 |
| Figura 8. Espectro de RMN ¹ H do precursor CMFF em CDCl ₃ . | 33 |
| Figura 9. Espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina em filme. | 34 |
| Figura 10. Espectro de RMN ¹ H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina em CDCl ₃ . | 35 |
| Figura 11. Espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina em filme. | 37 |
| Figura 12. Espectro de RMN ¹ H da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina em CDCl ₃ . | 38 |
| Figura 13. Espectro no IV do H ₂ L em filme. | 39 |
| Figura 14. Espectro de RMN ¹ H do H ₂ L em CDCl ₃ . | 41 |

LISTA DE ABREVIATURAS

Ar – aromático

Alif – alifático

Ald – aldeído

B6SS - ácido 1-(4-carboximetilfenil)-N,N'-bis[(2-mercapto-2,2-dimetil)etil]-1,2-etilenodiamina-N,N'-diacético

CA – central de análise

CMFF – 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol

DQ – Departamento de química

DTPA – ácido dietiletriaminopentaacético

DOTA – ácido 1,4,7,10 – tetraazaciclododecano – 1,4,7,10 – tetraacético

EDTA - ácido etilenodiaminotetraacético

Et₃N – trietilamina

FDA – Food and Drug Administration (EUA)

H₂L - N,N' – bis [(3-formil, 2-hidroxi, 5- metilbenzil)]-N-[metil],N'-[2-piridilmetil]-1,3- propanodiamino

HMB – 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído

IV – espectroscopia vibracional na região do infravermelho

LABINC – Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia

MRI – ressonância magnética de imagem

PA-DOTA - a-[2-(4-aminofenil)etil]-1,4,7,10-tetraciclododecano-1,4,7,10-tetraacético

PET – Tomografia por emissão de pósitrons

P.F – ponto de fusão

RMN ¹H– ressonância magnética nuclear de hidrogênio

TMS – tetrametilsilano

1B4M-DTPA - ácido 2-(p-isotiocianatofenil)-6-metildietilenotriaminapentaacético

n – estiramento (IV)

d – deformação angular (IV)

d_H – deslocamento químico do hidrogênio (RMN)

RESUMO

O potencial de aplicação de fármacos inorgânicos em medicina nuclear e ressonância magnética para diagnóstico e/ou terapia é muito amplo. Entretanto, os fármacos inorgânicos devem possuir determinadas propriedades que permitam sua utilização para tal finalidade. Os fármacos devem ser de baixa toxicidade, cinética e termodinamicamente estáveis e preferencialmente específicos para um determinado tipo de tecido. Os radiofármacos são drogas que contêm obrigatoriamente um radionuclídeo adequado e são usados rotineiramente na medicina nuclear para diagnóstico e terapia de várias doenças. Os radiofármacos são em sua maioria complexos metálicos, onde o metal é um radionuclídeo com decaimento apropriado à sua aplicação, por exemplo, ^{99m}Tc , ^{67}Ga e ^{113m}In são emissores de radiação γ e usados em cintigrafia. Por outro lado, os agentes de contraste são fármacos administrados nos pacientes com a finalidade de realçar a imagem em exames clínicos por ressonância magnética, permitindo obter maior exatidão nos diagnósticos. Os agentes de contraste são complexos dotados de um íon metálico com elevado momento magnético, tais como Mn(II) , Fe(III) e Gd(III) .

Os fármacos existentes não apresentam uma grande eficiência principalmente devido à falta de bio-especificidade. Assim, o desenvolvimento de novos compostos com potencialidade farmacológica representa uma área de pesquisa de grande relevância atualmente.

Neste trabalho apresentamos a síntese e caracterização de um novo ligante aminofenólico, pentadentado e com um conjunto N_3O_2 doador, o $\text{N,N}'$ – bis[(3-formil-2-hidroxi-5-metil)benzil]- N -[metil], N' -[2-piridilmetil]-1,3-propanodiamina (H_2L), para ser usado como precursor na preparação de possíveis fármacos inorgânicos, seja radiofármacos ou agentes de contraste, pois o mesmo é adequado à coordenação de metais trivalentes como Ga(III) , Gd(III) e In(III) que são metais de interesse farmacológico. Tanto os compostos intermediários como o ligante H_2L foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear de próton.

1. INTRODUÇÃO

O estudo não-invasivo do interior do corpo humano foi sempre um desafio para os pesquisadores, que se preocuparam em desenvolver métodos para diagnóstico precoce que fossem confiáveis e causassem o mínimo de desconforto ao paciente.

Há muito tempo elementos inorgânicos tem sido utilizado como drogas de caráter terapêutico¹ ou para fins de diagnóstico². Podemos citar, por exemplo, compostos inorgânicos simples como o FeSO_4 utilizado para o tratamento de anemia, o $\text{Mg}(\text{OH})_2$ usado como anti-ácido e o BaSO_4 utilizado como contraste em exames de raios x. O marco inicial da química inorgânica medicinal se deu nos anos 30 com a descoberta da atividade anti-tumoral da cis-platina ($\text{cis-[Pt(NH}_3)_2\text{Cl}_2]$).³ Entretanto, o grande interesse no desenvolvimento de novos compostos inorgânicos com propriedades farmacológicas começou nos anos 70 devido ao desenvolvimento de novas técnicas e equipamentos e ao grande potencial de aplicação destes fármacos. Nestes últimos 30 anos, vários compostos inorgânicos foram preparados com finalidade farmacológica, sendo que alguns deles têm sido regularmente utilizados em exames clínicos de diagnóstico, permitindo que determinadas patologias possam ser diagnosticadas precocemente.²

Nos últimos 40 anos diversos tipos de equipamentos foram desenvolvidos para diagnósticos clínicos, tais como a cintigrafia e a tomografia, que fornecem exames detalhados que permitem fazer diagnósticos precoces de diversas doenças². No entanto, os instrumentos por si próprios não conseguem corresponder à máxima potencialidade das respectivas técnicas. Devido a este fato, utilizam-se alguns medicamentos em conjunto com os equipamentos, o que melhora os resultados obtidos e permite um diagnóstico mais preciso e detalhado. São exemplos a cintigrafia e a tomografia que são técnicas correlacionadas com a medicina nuclear que utiliza necessariamente um radiofármaco como princípio ativo.⁴ Agentes de contraste paramagnéticos são utilizados em ressonância magnética, para obtenção de um realce na imagem, propiciando maior precisão nos exames.⁵

1.1 MEDICINA NUCLEAR

A medicina nuclear é definida como a utilização de materiais radioativos no diagnóstico e terapia de pacientes, ou seja, é um ramo da medicina que emprega algum tipo de radiação para os procedimentos médicos.⁶ A medicina nuclear utiliza radioisótopos distintos para terapia e diagnóstico.

Quando a abordagem da medicina nuclear é terapêutica, a radiação é empregada na tentativa de curar doenças. Determinados tipos de câncer, tais como, câncer tiroidal, câncer nos ossos, câncer de pulmão, entre outros, podem ser tratados por radioterapia.⁷ Quando o tecido vivo é irradiado, a radiação ionizante interfere no processo de replicação celular, com efeito mais acentuado nas células doentes. No entanto, células saudáveis também podem ser afetadas, mesmo que o feixe radioativo seja apontado precisamente para o tecido neoplásico, mas como estas possuem mecanismos de regeneração do DNA, tornam-se mais resistentes à radiação.⁸ O ^{60}Co é o radioisótopo mais usado para destruir células tumorais, o qual emite radiação γ , cuja energia deve estar na faixa de 100 a 250 Kev por decaimento.⁹

Na medicina nuclear para fins de diagnóstico, os radiofármacos, que são compostos químicos dotados de um radioisótopo, são introduzidos nos pacientes para fornecerem informações sobre a presença e/ou extensão de uma determinada doença.⁹ Para ser usado com finalidade diagnóstica o radioisótopo deve possuir algumas características peculiares, tais como, emitir radiação γ , pois esta tem um grande poder de penetração e podem sair do organismo e, ter tempo de meia vida adequado, ou seja, nem tão curto que não possa ser detectado, nem tão longo para que sua atividade não persista no organismo após o diagnóstico. O $^{99\text{m}}\text{Tc}$ é um radionuclídeo adequado para uso em medicina nuclear, pois tem um tempo de meia-vida de 6,02 horas e emite radiação γ com energia de 141 Kev, sendo largamente empregado na varredura de rins, fígado, bexiga, cérebro e pulmões.¹⁰ Além deste, podemos citar o ^{67}Ga como outro exemplo de radionuclídeo, o citrato de Ga-67 $[\text{}^{67}\text{Ga}(\text{citrato})_2]^{3-}$ é um radiofármaco aprovado pelo FDA para o diagnóstico de alguns tumores, processos infecciosos e inflamatórios.⁹ A cintigrafia é uma das técnicas de diagnóstico mais utilizadas,

baseada num método de investigação clínica que utiliza uma pequena dose de uma substância radioativa (radiofármaco), denominada marcador, para identificar áreas do corpo onde a radioatividade se distribui. A radiação emitida pelo marcador é detectada por uma câmara γ , a qual armazena as informações que posteriormente são processadas, obtendo-se uma imagem do órgão ou tecido que se deseja estudar.^{9,11}

Outra técnica empregada é a tomografia por emissão de pósitrons (PET), que é uma técnica utilizada para investigar processos dinâmicos que ocorrem no corpo, tal como o fluxo sanguíneo, ou a taxa na qual o oxigênio ou a glicose são metabolizados. A PET necessita de radionuclídeos com decaimento β^+ o que resulta em uma emissão simultânea de dois fótons de mesma energia (511keV). A tomografia por emissão de pósitrons pode ser usada no diagnóstico de tumores malignos e, é de fundamental importância nos casos de tumores de difícil localização, na figura 1, observamos a PET de um paciente com tumor no pâncreas, tumor esse que não havia sido detectado anteriormente por marcadores tumorais em exames laboratoriais.^{11,12}

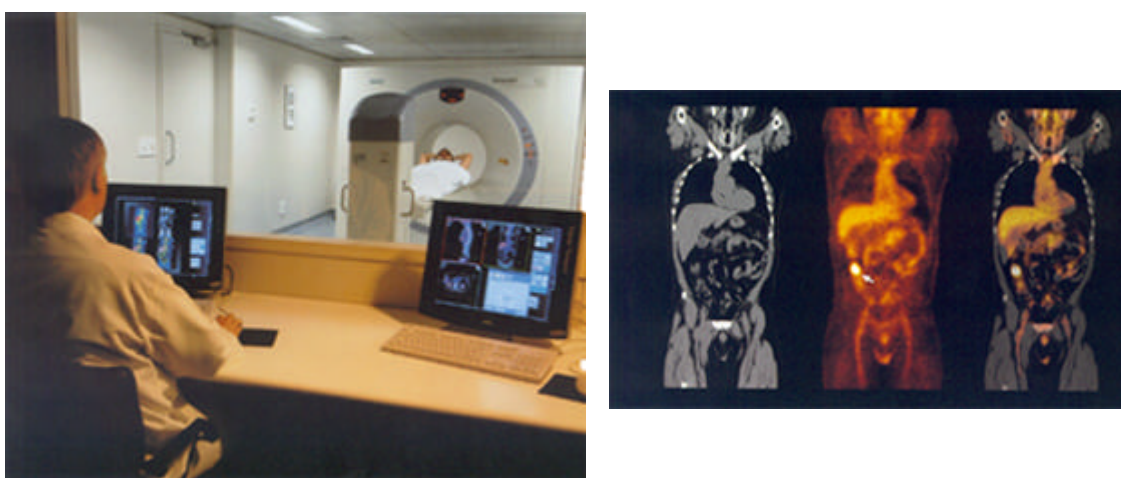


Figura 1 – Imagens da PET de um paciente com câncer de pâncreas.

Além da oncologia, a PET é usada para diagnósticos nas áreas cardiológica e neurológica. Na cardiologia, pode ser usada para determinar o grau de recuperação do músculo cardíaco após o infarto. Já na área de neurologia, é útil para localizar focos de epilepsia e realizar diagnósticos mais precisos dos males de Alzheimer e Parkinson.¹²

1.1.1 RADIOFÁRMACOS

Radiofármacos são drogas que contêm um radionuclídeo e são usados rotineiramente na medicina nuclear para diagnóstico e terapia de várias doenças. Os radiofármacos são em sua maioria complexos metálicos, onde o metal é um radionuclídeo com decaimento apropriado à sua aplicação.⁴ Os radiofármacos de diagnóstico ou terapia seriam muito provavelmente moléculas orgânicas se não fosse pelo fato de um radionuclídeo adequado ser o elemento essencial do radiofármaco. Os radiofármacos podem ser divididos em duas classes preliminares:

- (1) aqueles cuja biodistribuição é determinada exclusivamente por suas propriedades físicas e químicas;
- (2) aqueles cuja distribuição final é determinada por interações biológicas.

Esta última classe é chamada freqüentemente radiofármacos biológicos alvo-específicos, ou seja, a biodistribuição deve ser seletiva por um determinado tipo de tecido ou órgão.¹¹ A biodistribuição do radiofármaco depende, entre outros fatores, do tamanho da molécula, carga e lipofilicidade. No caso dos complexos metálicos, a biodistribuição depende exclusivamente das características do ligante e da forma com que este interage com os tecidos vivos, uma vez que o centro metálico está protegido pelo ligante e não deve interagir com o meio fisiológico.¹³

Há considerações importantes no projeto e no uso dos radiofármacos. Estes devem possuir algumas características que são essenciais a essa classe de compostos, particularmente com relação ao período de meia vida. O conceito de período ou meia-vida efetiva resulta da agregação do tempo de meia-vida físico e do período biológico. Assim, o período de meia-vida efetiva representa a probabilidade da perda da função do radiofármaco, seja pela eliminação do organismo ou por pela diminuição acentuada da atividade nuclear do radionuclídeo.¹³

Para que sejam utilizados nos procedimentos médicos, é de fundamental importância que o radiofármaco não tenha nenhum tipo de alteração na sua estrutura quando introduzido no meio fisiológico, ou seja, deve ser estável com respeito aos processos de hidrólise em pH fisiológico e, estável também com relação a desmetalação por parte das proteínas do soro sanguíneo e ser de baixa toxicidade.¹³

O conjunto de propriedades dos radiofármacos resulta do somatório das propriedades dos radionuclídeos, das propriedades físico-químicas e da sua biodistribuição.⁴

Há uma classe particular de radiofármacos que são formados de um radionuclídeo coordenado por um agente quelante bifuncional (QBF). Esses agentes possuem uma estrutura especialmente planejada que apresentam dois pólos funcionais. Um pólo é responsável pela coordenação do radionuclídeo, resultando um complexo estruturalmente estável em ambiente fisiológico, e outro pólo constituído por grupos funcionais (amina, carboxilato) capazes de se ligarem de forma covalente a uma biomolécula dirigida para sistemas receptores específicos.¹¹ Os agentes QBF podem ser desde pequenas moléculas, tais como ligantes modificados a partir da base estrutural do EDTA¹, o ácido fólico¹⁴ até macromoléculas envolvendo as mais variadas cadeias peptídicas.¹¹

1.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DE IMAGEM (MRI)

A descoberta da ressonância magnética nuclear (RMN ¹H) não pareceu ser de grande importância imediatamente. Pouco depois, entretanto, descobriu-se um enorme potencial de aplicação para esta técnica que, além da sua utilização em análise química, é uma técnica potente para diagnosticar lesões em ortopedia, lesões musculares, no diagnóstico de tumores ou obstruções sangüíneas, diagnosticar danos nas vértebras, problemas encefálicos, entre outros.^{15,16}

Na última década, a ressonância magnética de imagem evolui muito, tornando-se uma das técnicas mais poderosas na medicina clínica diagnóstica. Sua forte expansão alertou os pesquisadores para o desenvolvimento de uma nova classe de produtos farmacológicos, chamados agentes de contraste, projetados para ser administrados à pacientes com a finalidade de realçar o

contraste na imagem, permitindo avaliar com maior exatidão a ocorrência de neoplasias, a avaliação do funcionamento de um órgão ou o acompanhamento do fluxo sanguíneo.¹⁵

A intensidade da imagem por ressonância magnética se deve principalmente pela resposta dos prótons das moléculas de água nos tecidos e, obviamente, depende do tempo de relaxação desses prótons. A nitidez da imagem depende diretamente do tempo de relaxação dos prótons nos diferentes tecidos vivos. Assim, uma melhoria no contraste e nitidez da imagem por ressonância magnética pode ser obtida com a utilização de espécies paramagnéticas. Íons paramagnéticos de metais de transição podem diminuir o tempo de relaxação de núcleos próximos, através das interações dipolares, e devido a isso receberam uma grande atenção para a sua utilização como agentes de contraste. Neste contexto, o Gd(III) é especialmente interessante para a preparação de agentes de contraste devido ao seu paramagnetismo elevado (7 elétrons desemparelhados). No entanto, outros íons como o Fe(III) e Mn(II) podem ser utilizados na formulação desta classe de fármacos.^{17,18}

No entanto, a administração destes como íons livres não é indicada, pois nessa forma eles podem ser tóxicos, promover reações de hidrólise e apresentar uma biodistribuição aleatória. Por esta razão, uma nova classe de ligantes tem sido desenvolvida para formar complexos estáveis, com baixa toxicidade e alta relaxividade.^{17,18}

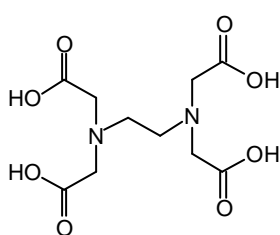
A relaxividade é uma propriedade intrínseca de complexos paramagnéticos que caracteriza sua habilidade de aumentar a taxa relaxação de prótons. Taxas elevadas de relaxação asseguram alto contraste com um significativo realce na imagem, fazendo com que se obtenha um diagnóstico mais rápido com melhor qualidade de imagem. A relaxividade de um complexo é a propriedade relacionada diretamente com o número de moléculas de água na esfera interna de coordenação. Os agentes de contraste para ressonância magnética devem possuir pelo menos uma molécula de água na esfera interna de coordenação. Por outro lado, a molécula de água coordenada deve apresentar uma troca rápida com as moléculas de água das vizinhanças, sendo que a eficiência do agente de contraste é proporcional a velocidade de troca.¹⁸

Atualmente as pesquisas em ressonância magnética estão voltadas para o desenvolvimento de agentes de contraste com duas moléculas de água na esfera

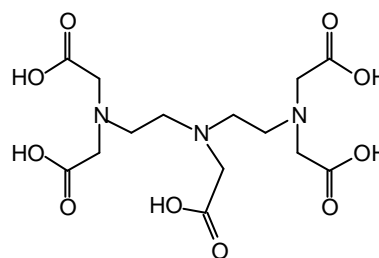
interna de coordenação, com o objetivo de aumentar a taxa de relaxação, aumentando assim a eficiência do agente de contraste. Conseqüentemente, ao lado da busca por compostos com relaxividade elevada, há pesquisadores focalizados nos agentes de contraste alvo-específicos ou também chamados “agentes de contraste inteligentes”, ou seja, agentes específicos para cada tipo de tecido.¹⁶

1.3 LIGANTES DE INTERESSE FARMACOLÓGICO

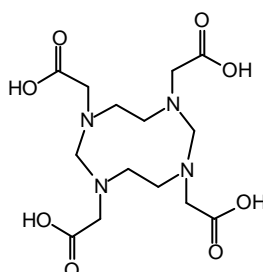
Uma vez que, no radiofármaco o radiometal contribui apenas com as propriedades nucleares e também nos agentes de contraste o íon central é que contribui com as propriedades nucleares, as propriedades bioquímicas dependem exclusivamente do ligante. Os primeiros fármacos importantes utilizados, tanto radiofármacos como agentes de contraste, utilizavam para coordenação com o metal, ligantes já conhecidos como eficientes agentes quelantes, tais como, o EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético), DOTA (ácido 1,4,7,10 – tetraazacicloodecano – 1,4,7,10 – tetraacético) representados na figura 2. No entanto, estes compostos não apresentam uma biodistribuição específica e por isso sua utilização na medicina é limitada.^{10,15,19}



EDTA



DTPA



DOTA

FIGURA 2 – Ligantes comuns de relevância farmacológica.

Com o avanço da física nuclear, ofertando um maior número de radionuclídeos, e com a disponibilidade de diferentes íons paramagnéticos, houve um crescente interesse no desenvolvimento de novos fármacos preferencialmente bio-específicos. Com isso uma grande variedade de novos fármacos com agentes quelantes mais elaborados foram preparados e avaliados quanto ao seu potencial farmacológico. Dentre estes podemos citar, o B6SS (ácido 1-(4-carboximetilfenil)-N,N'-bis[(2-mercapto-2,2-dimetil)etil]-1,2-etilenodiamina-N,N'-diacético), que descende do EDTA, o 1B4M-DTPA (ácido 2-(p-isotiocianatofenil)-6-metildietilenotriaminapentaacético) que descende do DTPA e o PA-DOTA (α-[2-(4-aminofenil)etil]-1,4,7,10-tetraciclododecano-1,4,7,10-tetraacético) que descende do DOTA, representados na figura 3. Estes agentes coordenados com um radionuclídeo, resultam complexos estruturalmente estáveis em ambiente fisiológico.^{10,15,19}

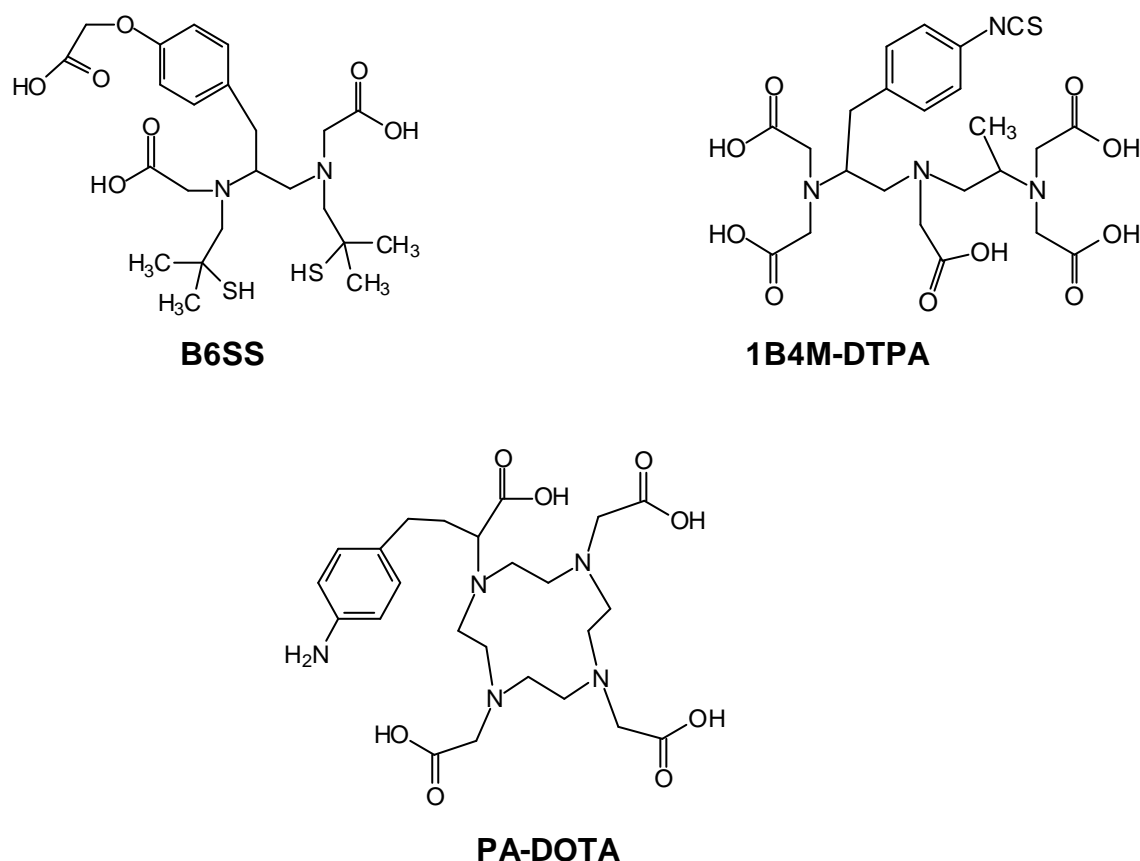


FIGURA 3 – Ligantes de relevância farmacológica mais elaborados.

Considerando-se o grande potencial das técnicas empregadas na medicina nuclear e ressonância magnética para o diagnóstico precoce de doenças, o número restrito de radiofármacos e agentes de contraste disponíveis para o uso rotineiro nos procedimentos médicos e a necessidade de produção de fármacos com biodistribuição seletiva, pode-se dizer que o desenvolvimento de novos complexos metálicos cineticamente inertes e termodinamicamente estáveis e com potencial de aplicação no âmbito medicinal representa uma área de pesquisa de grande relevância na atualidade. Dessa forma o desenvolvimento de ligantes, principalmente do tipo QBF, que sejam adequados à coordenação de metais trivalentes como Ga(III), Gd(III), e In(III), que são metais de interesse farmacológico, e propiciem a formação de complexos com alta constante de estabilidade, são particularmente interessantes.²⁰⁻²³

Diante do exposto, estamos propondo como motivo para este trabalho a síntese do ligante amino fenólico N,N' – bis [(3-formil, 2-hidroxi, 5- metil)benzil]-N-[metil],N'-[2-piridilmetil]-1,3- propanodiamina (H₂L) representado na figura 4, como precursor para a preparação de possíveis fármacos inorgânicos.

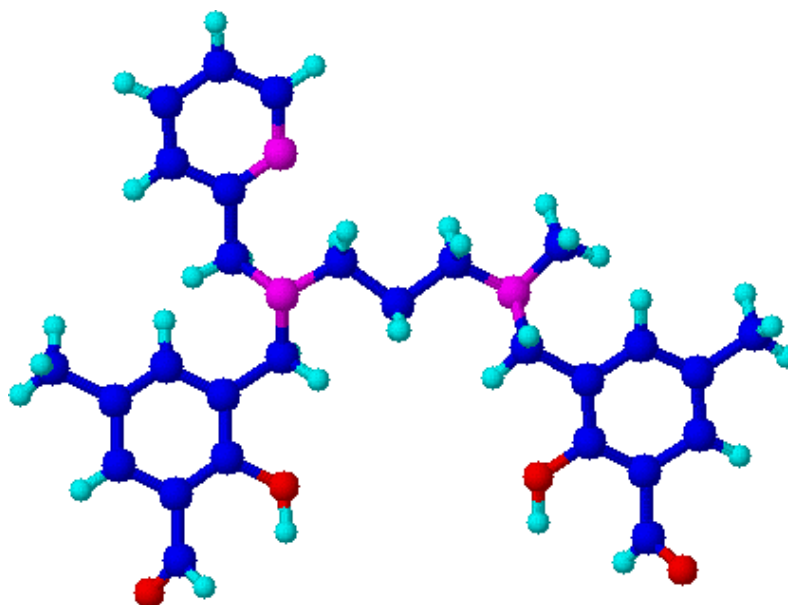


FIGURA 4 – Estrutura tridimensional do ligante H₂L.

Trata-se de um ligante estrategicamente planejado não somente para coordenar íons trivalentes de interesse farmacológico, tais como Ga(III), Gd(III), e In(III), mas também para ser um precursor de possíveis fármacos bifuncionais.

H₂L é baseado no esqueleto da N-metil-propano-1,3-diamina, dotado de um braço piridínico e dois braços fenólicos assimetricamente distribuídos na estrutura do ligante. Assim, o ligante deverá atuar de forma pentadentada com um conjunto N₃O₂-doador na coordenação do centro metálico, formando um cátion complexo mononuclear quando coordenado a um íon metálico trivalente.

O H₂L possui dois grupos aldeído livres que permite utilizá-lo como precursor para ligantes derivados bifuncionais, pois permite o acoplamento de diferentes substituintes que podem modificar propriedades como solubilidade, lipofilicidade, e por consequência a biodistribuição. Por exemplo, reagindo-o com a N-metiletilenodiamina, este permite complexar com o conjunto N₃O₂-doador metais como Ga(III), Gd(III), e In(III) e ser usado como fármaco de diagnóstico em cintigrafia, PET e ressonância magnética de imagem e ainda, coordenar metais como platina podendo também ser utilizado como fármaco terapêutico no tratamento de câncer. Neste caso a bifuncionalidade está correlacionada com a utilização para diagnóstico e terapêutica de forma simultânea. Também pode-se acoplar ao H₂L pequenas cadeias peptídicas e assim modificar de forma importante a propriedade da biodistribuição. Desta forma, o ligante H₂L é um precursor versátil para possíveis radiofármacos ou agentes de contraste, dependendo do íon metálico coordenado e podendo apresentar diferentes bifuncionalidades.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Sintetizar e caracterizar um novo ligante aminofenólico de interesse farmacológico e precursor para possíveis fármacos bifuncionais.
- Adequar as técnicas de síntese e purificação para a obtenção do ligante aminofenólico proposto.
- Utilizar técnicas espectroscópicas, infravermelho e RMN ^1H , para a caracterização do ligante aminofenólico através da interpretação dos sinais espectrais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e purificar o ligante $\text{N,N}'$ – bis[(3-formil, 2-hidroxi, 5- metil)benzil]-N-[metil],N'-[2-piridilmetil]-1,3- propanodiamina, o qual é um ligante pentadentado e tem um conjunto N_3O_2 -doador.
- Caracterizar o ligante $\text{N,N}'$ – bis[(3-formil, 2-hidroxi, 5- metil)benzil]-N-[metil],N'-[2-piridilmetil]-1,3- propanodiamina através da espectroscopia vibracional de infravermelho, identificando as bandas de absorção características.
- Caracterizar o ligante $\text{N,N}'$ – bis[(3-formil, 2-hidroxi, 5- metil)benzil]-N-[metil],N'-[2-piridilmetil]-1,3- propanodiamina através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H identificando e quantificando os sinais através dos deslocamentos químicos, integração e intensidade dos sinais.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais, equipamentos e métodos de análise

3.1.1 Reagentes e Solventes

Os reagentes (Tabela 1) utilizados nas etapas de síntese foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia.

Tabela 1 – Reagentes utilizados nas etapas de síntese.

| Reagente | Fórmula | Marca |
|------------------------------|--|---------|
| Ácido Clorídrico concentrado | HCl | Vetec |
| Bicarbonato de Sódio | NaHCO ₃ | Nuclear |
| Formaldeído 37% | HCHO | Vetec |
| Hidróxido de Sódio | NaOH | Nuclear |
| N-metil-1,3-propanodiamina | C ₄ H ₁₂ N ₂ | Aldrich |
| Paládio/Carbono 5% | Pd/C | Aldrich |
| 2-piridinocarboxialdeído* | C ₅ H ₅ NO | Acros |
| ? – Cresol | C ₇ H ₈ O | Aldrich |
| Sulfato de Magnésio anidro | MgSO ₄ | Vetec |
| Sulfato de Sódio anidro | Na ₂ SO ₄ | Vetec |
| Trietilamina | N(CH ₂ CH ₃) ₃ | Merck |

* O 2-piridinocarboxialdeído foi purificado através de destilação antes de ser usado.

Os solventes (Tabela 2) também foram obtidos de fontes comerciais e não passaram por processo de purificação prévia.

Tabela 2 – Solventes utilizados nas etapas de síntese.

| Solventes | Fórmula | Pureza | Marca |
|------------------|-----------------------------------|---------------|--------------|
| Clorofórmio | CHCl_3 | PA-ACS* | Nuclear |
| Diclorometano | CH_2Cl_2 | PA-ACS | Nuclear |
| Etanol | $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ | PA-ACS | Nuclear |
| Metanol | CH_3OH | PA-ACS | Nuclear |

* PA-ACS – Para Análise-American Chemical Society.

3.1.2 Equipamentos

3.1.2.1 Equipamentos utilizados nas caracterizações

Os equipamentos utilizados nas análises de caracterização dos precursores e ligante estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 – Equipamentos utilizados nas análises deste trabalho.

| Equipamento* | Modelo | Marca |
|--------------------------------------|-------------------|--------------|
| Espectroscopia no Infravermelho (IV) | System 2000 FT-IR | Perkin Elmer |
| Espectroscopia no Infravermelho (IV) | FT16PC | Perkin Elmer |
| Ponto de Fusão (PF) | MQAPF – 301 | Microquímica |
| Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | AC 200F | Bruker |
| Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | AC 400F | Varian |

* Os equipamentos de PF e IV (System 2000 FT-IR) pertencem ao Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), os outros à central de análise do Departamento de Química – UFSC.

3.1.3 Métodos de análise

3.1.3.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

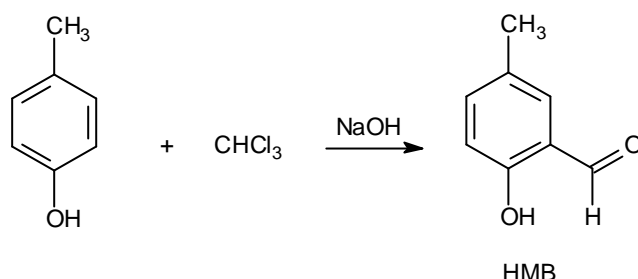
Uma parte das análises (amostras oleosas) foi realizada na CA-DQ e as demais (amostras sólidas) no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC). As amostras sólidas foram preparadas por dispersão em brometo de potássio (KBr) em grau espectroscópico e prensadas (10 toneladas) formando pastilha com cerca de 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. Essas pastilhas foram introduzidas diretamente no caminho óptico do equipamento para leitura do percentual de transmitância (T%). As amostras oleosas foram analisadas em filme na CA-DQ da UFSC.

3.1.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Alíquotas dos produtos puros e secos em bomba de vácuo foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) contendo tetrametilsilano (TMS) como padrão interno e transferidas para tubos específicos de RMN de 5mm com um volume final de 0,7 mL. As amostras foram analisadas na CA-DQ da UFSC.

3.2 Síntese do Ligante

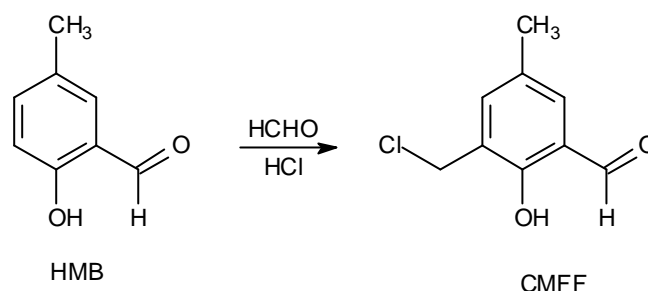
3.2.1 Síntese do precursor 2-hidroxi-5metilbenzaldeído (HMB)²⁴



O HMB foi preparado através de uma reação de formilação do *p*-cresol baseada no procedimento descrito na literatura para a reação de Reimer-Tiemann.²⁵ Em um balão de 3 bocas com capacidade para 500 mL, equipado com condensador e agitador mecânico, adicionou-se 250 mL de clorofórmio e 47,8 mL de *p*-cresol (455,7 mmol). O balão foi colocado em um banho com temperatura controlada entre 56 - 60°C e, sob agitação, iniciou-se a adição de NaOH 12g (300 mmol), solubilizado em 10 mL de água destilada, em pequenas porções durante as 3 primeiras horas de reação. A reação foi mantida por mais 1 hora e após este período deixou-se resfriar até a temperatura ambiente. A seguir, adicionou-se então cerca de 50 mL de água destilada e, sob agitação, iniciou-se a acidificação com HCl concentrado, até pH 2. A fase orgânica foi então separada, lavada com água destilada, seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado à pressão reduzida. O material restante (óleo preto viscoso) foi destilado à pressão reduzida com auxílio de uma coluna de vigreux de 40 cm (55 – 65 °C a 0,1 mm Hg). Obteve-se 28,5g de 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (HMB) como um sólido branco cristalino com rendimento de 46%.

P.F.: 56°C

3.2.2 Síntese do 2-clorometil-4metil-6-formil-fenol (CMFF)²⁴

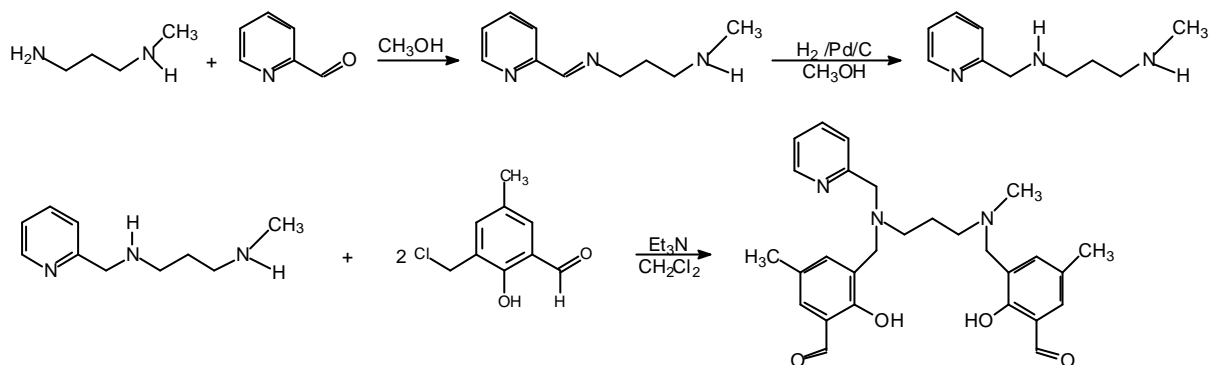


O CMFF foi obtido pela reação de clorometilação do HMB com formaldeído e ácido clorídrico como descrito a seguir: Em um balão de 250 mL adicionou-se 6,4g de 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (47 mmol), 7,5 mL de formaldeído 37% e 25 mL de ácido clorídrico concentrado. Esta mistura foi refluxada durante 15 minutos sob agitação magnética e na seqüência resfriada até 0°C, formando um precipitado compacto no fundo do balão, que foi triturado, filtrado sob vácuo e recristalizado em etanol absoluto a quente. O sólido obtido foi deixado secar em dessecador com sílica sob vácuo por 12 horas e estocado sob argônio a temperatura inferior a -10°C. O produto, 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol (CMFF), foi obtido como sólido amarelo claro com rendimento de 57%.

P.F.: 95-96 °C.

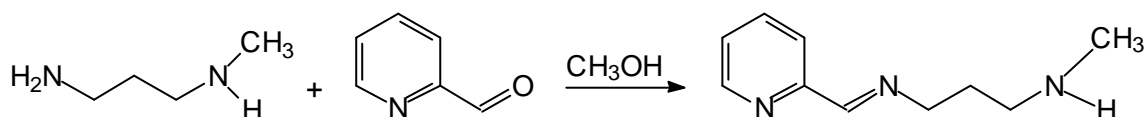
ATENÇÃO: Durante essa reação forma-se o composto bis-(clorometil) éter, altamente tóxico e comprovadamente um potente agente carcinogênico. Portanto, essa reação deve ser realizada em capela com boa exaustão, utilizando-se máscara e luvas, e todo o material utilizado deve ser lavado com solução alcalina (por exemplo, etanol/água/KOH: 60 mL/40 mL/5 g, na capela), pois o bis-(clorometil)éter é rapidamente hidrolisado a formaldeído na presença de base. A solução reacional e todos os resíduos devem ser descartados somente após correção do pH (pH>9,0) por adição de hidróxido de sódio ou potássio.

3.2.3 Síntese do ligante N,N' – bis [3-formil, 2-hidroxi, 5-metilbenzil]-N-[metil], N'- [2-piridilmetil] - 1,3 - propanodiamina. (H₂L)



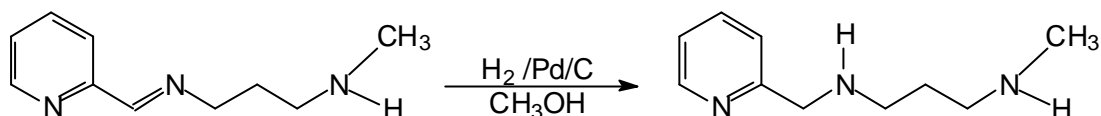
ESQUEMA 1 – Rota utilizada na síntese do ligante H₂L

3.2.3.1 Síntese da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina



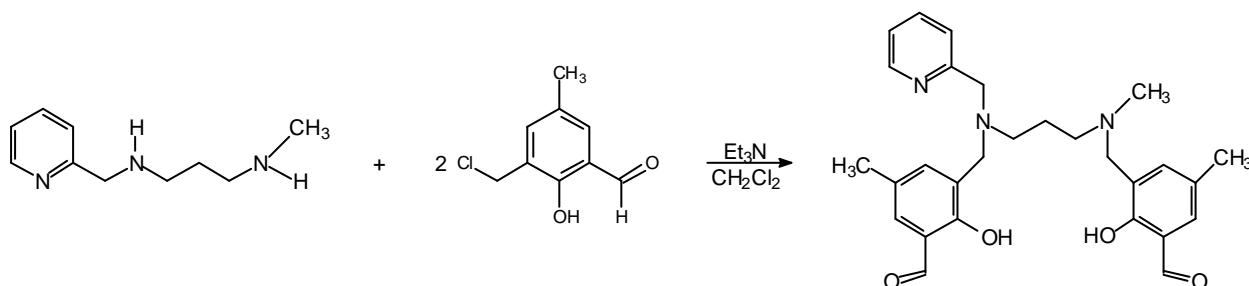
A N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina foi preparada através de uma reação de adição nucleofílica como descrito a seguir: Em um balão de 250 mL foram adicionados 100 mL de metanol e 4,4 mL (42 mmol) de N-metil-1,3-propanodiamina, sob agitação magnética e resfriados à 0°C em banho de gelo. Em seguida, adicionou-se lentamente 4,0 mL (42 mmol) de 2-piridilcarboxialdeído e a mistura reacional foi mantida sob agitação por 2 horas. O solvente foi evaporado a pressão reduzida, restando um óleo amarelo. O rendimento foi próximo a 100%.

3.2.3.2 Síntese da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina



A N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina foi preparada através da redução da imina, sintetizada anteriormente, por hidrogenação catalítica, como descrito no procedimento que segue: Em um béquer de 250 mL dissolveu-se 7,4 g (42 mmol) N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina em 50 mL de metanol em seguida transferiu-se a solução para um recipiente apropriado contendo 1,0 g de Paládio/Carbônio 5%, sob uma atmosfera de hidrogênio a 40 psi e agitada durante 15 horas. A solução foi então separada do catalisador por filtração e o solvente evaporado a pressão reduzida à 40°C. O produto obtido foi um óleo amarelo-claro com rendimento quantitativo em relação à N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina.

3.2.3.3 Síntese do ligante H_2L



O ligante H_2L foi sintetizado através de uma reação de substituição nucleofílica entre a amina e o precursor CMFF como descrito à seguir: Em um balão contendo 80 mL de diclorometano dissolveu-se 6,0 g ($184,62 \text{ g.mol}^{-1}$, 32,5 mmol) de CMFF, o balão foi resfriado a 0°C em banho de gelo. Uma solução 2,91 g (16,25 mmol) de N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina e 4,5 mL (32,5

mmol) de trietilamina em 80 mL de diclorometano foi adicionada lentamente sobre o CMFF. Depois de completada a adição, o banho de gelo foi removido e a mistura reacional deixada sob refluxo e agitação magnética durante 20 horas. Após este período a solução foi lavada por oito vezes com uma solução saturada de bicarbonato de sódio e a fase orgânica seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida restando um óleo amarelo, o qual foi seco em bomba de vácuo. O rendimento foi de 78% com relação à amina de partida.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do precursor HMB

4.1.1 Espectroscopia no infravermelho (IV)

Na figura 5 apresenta-se o espectro de infravermelho do HMB, cujas bandas e atribuições são mostradas na tabela 4.

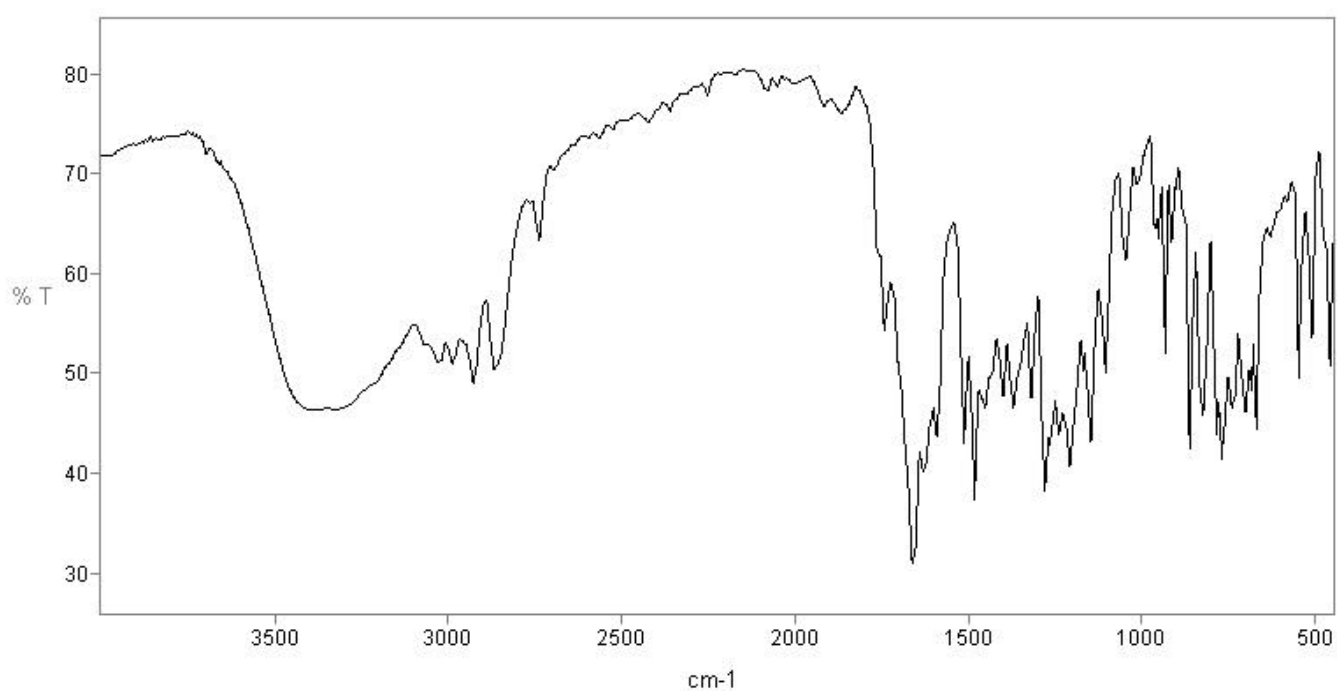


FIGURA 5 – Espectro no IV do precursor HMB em pastilha de KBr.

Tabela 4 – Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV do HMB

| Posição da banda (cm^{-1}) | Atribuição |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 3000 - 3100 | ? (C-H_{Ar}) |
| 2864 | ? (C-H_{Alif}) |
| 2738 | ? (C-H_{Ald}) |
| 1658 | ? (C=O) |
| 1484 | ? (C=C) |
| 1372 | d (OH_{fenol}) |
| 1282 | ? ($\text{C-O}_{\text{fenol}}$) |
| 742 | d (C-H_{Ar}) |

Normalmente aldeído saturado apresenta banda característica de deformação axial da ligação C=O próximo 1730 cm^{-1} , no entanto, a conjugação do aldeído com o anel aromático diminui a energia de absorção e é devido a essa conjugação que no espectro no IV do HMB esta banda aparece em 1658 cm^{-1} .

4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ($\text{RMN } ^1\text{H}$)

Na figura 6 apresenta-se o espectro de $\text{RMN } ^1\text{H}$ do precursor HMB, os valores de deslocamento químico (δ_{H}), o número de átomos de hidrogênio correspondentes e as respectivas atribuições dos sinais estão mostrados na tabela 5. O espectro confirma a formação do composto HMB sem impurezas, com destaque para o sinal em 6,90 ppm evidenciando que a reação ocorre em apenas uma das posições *orto* ao grupo hidroxila. A possibilidade de formação do di-aldeído pode ser descartada pelos valores das integrais. Dessa forma pode se afirmar que foi obtido somente o composto esperado.

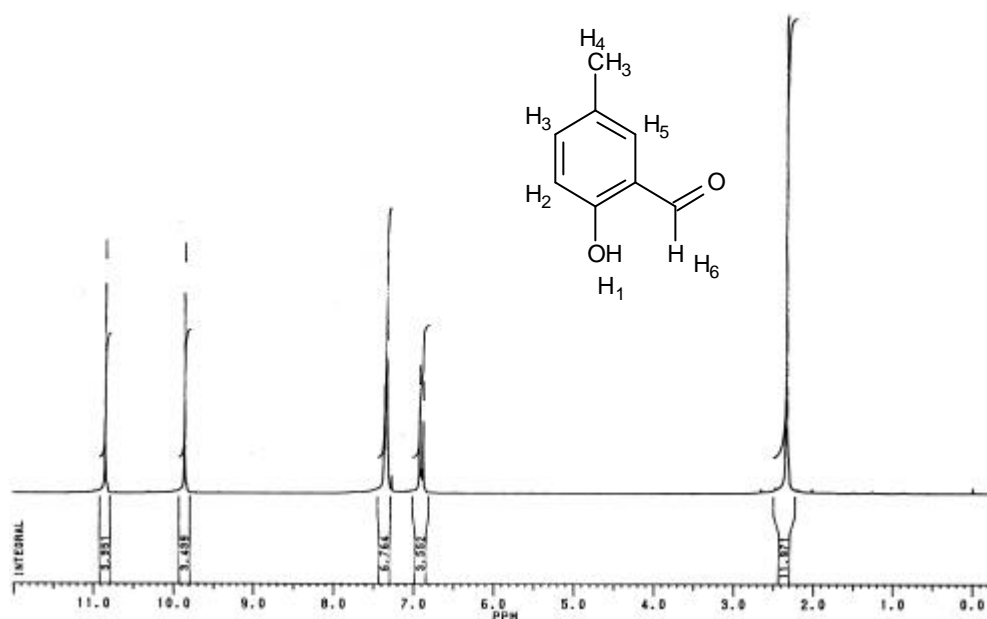


FIGURA 6 – Espectro de RMN ¹H do precursor HMB em CDCl₃ (200 MHz).

Tabela 5 – Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ¹H do HMB.

| Posição d _H (ppm) | Atribuição |
|------------------------------|--|
| 2,34 | H ₄ (s, 3H) |
| 6,90 | H ₂ (d, 1H) |
| 7,34 | H ₃ , H ₅ (dd, 2H) |
| 9,85 | H ₆ (s, 1H) |
| 10,84 | H ₁ (s, 1H) |

4.2 Caracterização do precursor CMFF

4.2.1 Espectroscopia no infravermelho (IV)

Na figura 7 apresenta-se o espectro no IV do CMFF, cujas bandas e atribuições são mostradas na tabela 6. Assim como no HMB, a banda de deformação axial da ligação C=O aparece em 1664 cm⁻¹ devido à conjugação como anel aromático.

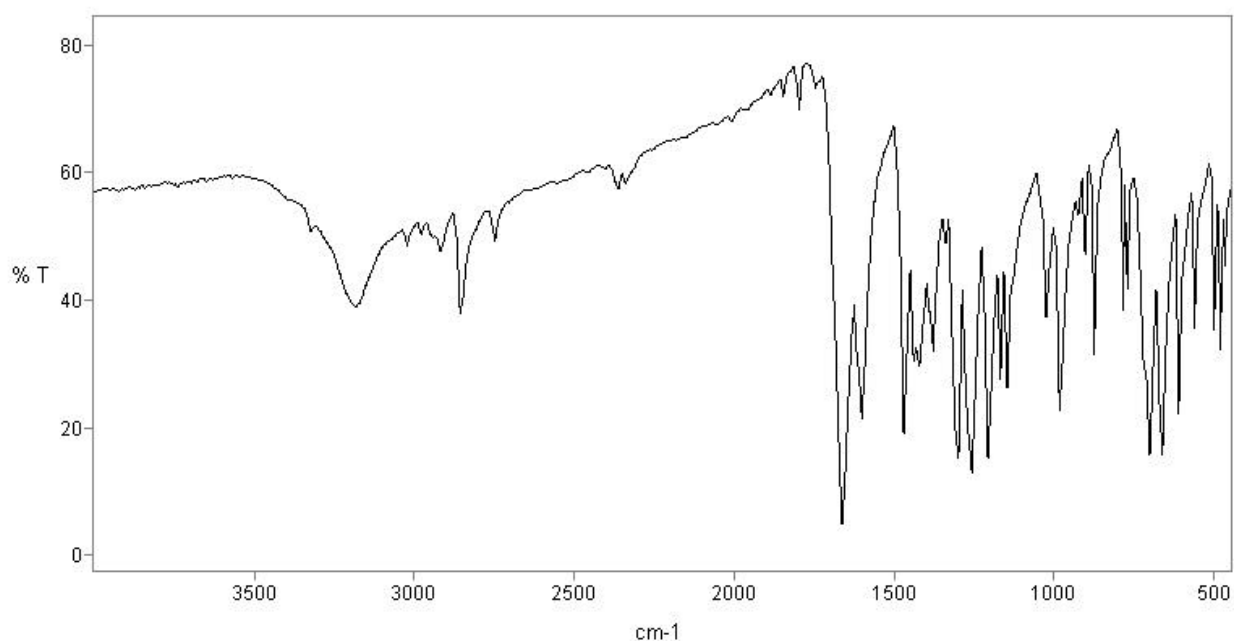


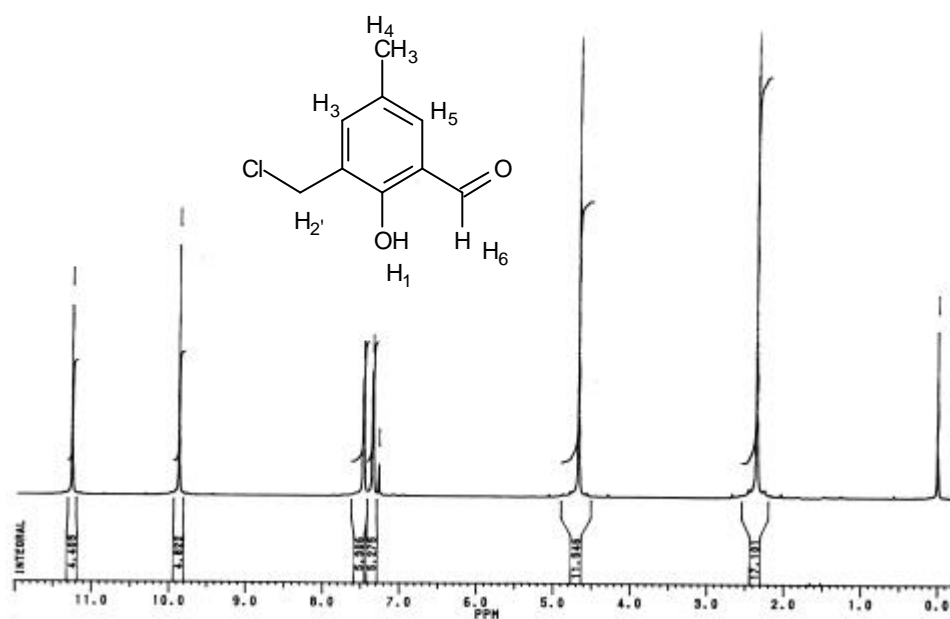
FIGURA 7 – Espectro no IV do precursor CMFF em pastilha de KBr.

Tabela 6 – Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV do CMFF.

| Posição da banda (cm ⁻¹) | Atribuição |
|--------------------------------------|---------------------------|
| 3048 | ? (C-H _{Ar}) |
| 2852 | ? (C-H _{Alif}) |
| 2749 | ? (C-H _{Ald}) |
| 1664 | ? (C=O) |
| 1470 | ? (C=C) |
| 1378 | d (OH _{fenol}) |
| 1257 | ? (C-O _{fenol}) |
| 703 | d (C-H _{Ar}) |
| 613 | ? (C-Cl) |

4.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H)

Na figura 8 apresenta-se o RMN ^1H do precursor CMFF, os valores de deslocamento químico (δ_{H}), o número de átomos de hidrogênio correspondentes e as atribuições dos sinais estão mostrados na tabela 7.



. **FIGURA 8** – Espectro de RMN ^1H do precursor CMFF em CDCl_3 (200 MHz).

Tabela 7 – Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H do CMFF.

| Posição δ_{H} (ppm) | Atribuição |
|-----------------------------------|--------------------------|
| 2,35 | H ₄ (s, 3H) |
| 4,67 | H ₂ ' (s, 2H) |
| 7,35 | H ₅ (s, 1H) |
| 7,46 | H ₃ (s, 1H) |
| 9,86 | H ₆ (s, 1H) |
| 11,25 | H ₁ (s, 1H) |

Através do espectro de RMN ^1H foi possível confirmar a formação do CMFF devido ao aparecimento de um sinal em 4,67 ppm referente ao metileno ligado ao cloro e ao desaparecimento do dublete em 6,90 ppm e surgimento de dois outros sinais, um em 7,46 e outro em 7,35 ppm em virtude das vizinhanças (CH_2Cl e CHO) serem diferentes.

4.3 Caracterização da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina

4.3.1 Espectroscopia no infravermelho (IV)

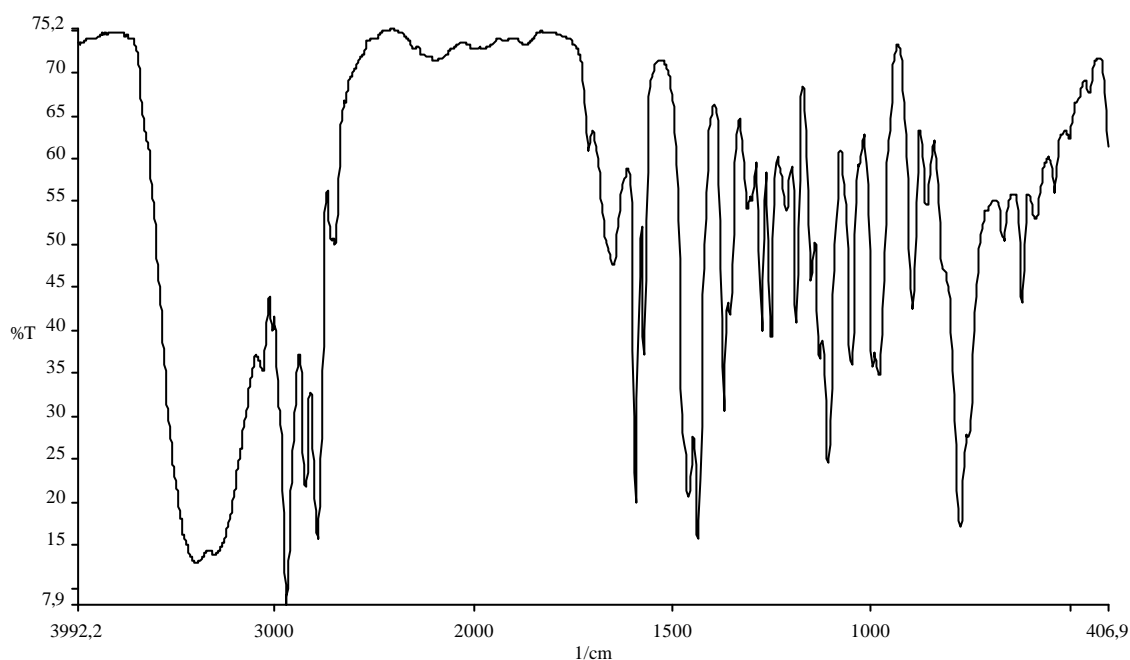


FIGURA 9 – Espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina em filme.

As principais bandas do infravermelho da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina estão relacionadas na tabela 8. O espectro no IV obtido para a imina mostra a banda referente ao estiramento $\text{C}=\text{N}$ em 1650 cm^{-1} , bandas de anel aromático e piridínico indicando que o produto desejado foi formado.

Tabela 8 – Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina

| Posição da banda (cm ⁻¹) | Atribuição |
|--------------------------------------|---------------------------|
| 3063 | ? (C-H _{Ar}) |
| 2847 | ? (C-H _{Alif}) |
| 1650 | ? (C=N _{imina}) |
| 1572 | ? (C=C _{Ar}) |
| 1460 | ? (C=N _{Ar}) |
| 760 | ? (C-H _{py}) |

4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H)

Na figura 10 apresenta-se o RMN ¹H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina os valores de deslocamento químico (δ_H), o número de hidrogênios correspondentes e as atribuições dos sinais estão relacionados na tabela 9.

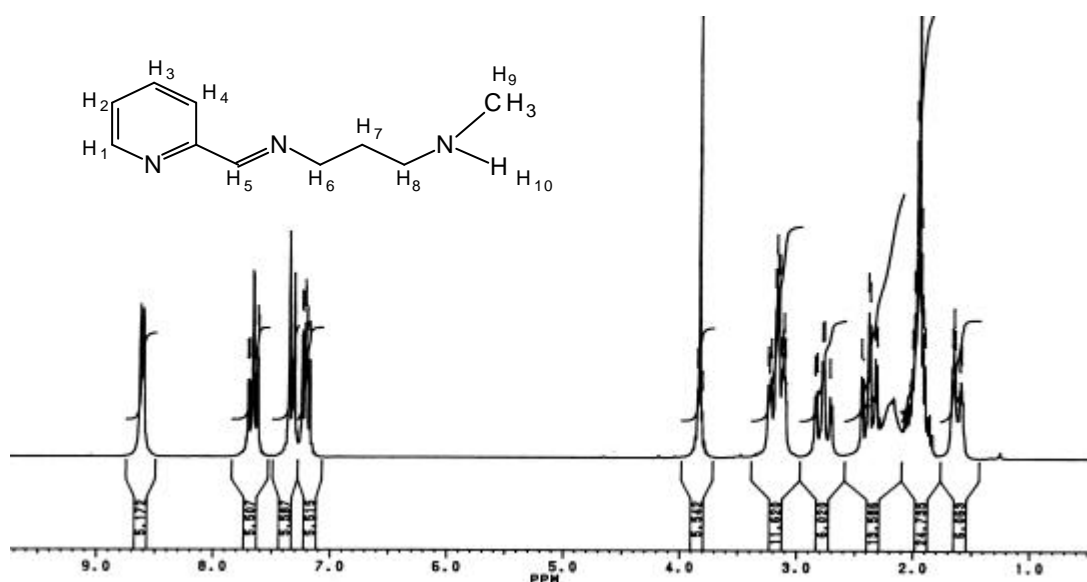


FIGURA 10 - Espectro de RMN ¹H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina em CDCl₃ (200MHz).

Tabela 9 – Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina

| Posição δ_{H} (ppm) | Atribuição |
|-----------------------------------|-------------------------|
| 1,66 | H ₇ (m, 1H) |
| 1,98 | H ₉ (s, 3H) |
| 2,31 | H ₁₀ (s, 1H) |
| 2,38 | H ₈ (m, 2H) |
| 2,77 | H ₇ (m, 1H) |
| 3,22 | H ₆ (m, 2H) |
| 3,81 | H ₅ (s, 1H) |
| 7,23 | H ₃ (m, 1H) |
| 7,34 | H ₄ (m, 1H) |
| 7,63 | H ₂ (m, 1H) |
| 8,62 | H ₁ (d, 1H) |

O espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina fornece os deslocamentos e o cálculo do número de ^1H de acordo com o produto esperado, com destaque para o sinal em 3,81 ppm referente ao próton HC=N indicando a formação da imina.

4.3.3 Caracterização da amina N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina

4.3.3.1 Espectroscopia no infravermelho (IV)

Na figura 11 apresenta-se o espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina. Em comparação ao espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina, observa-se o desaparecimento da banda em 1650 cm^{-1} referente a C=N da imina e o surgimento de uma banda em 3295 cm^{-1} atribuída à amina secundária.

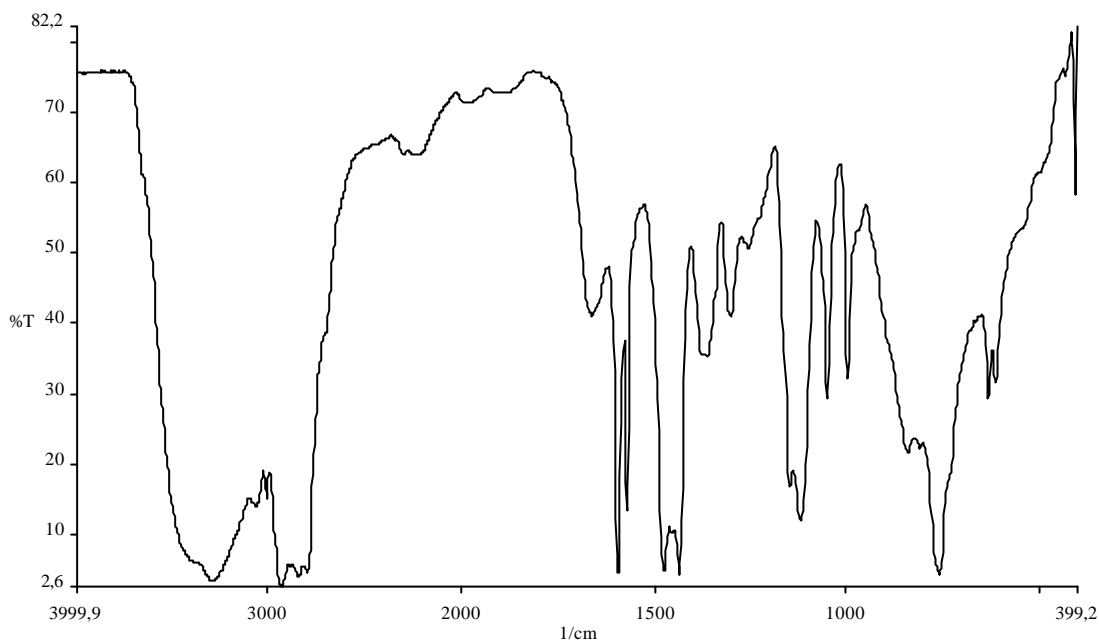


FIGURA 11 – Espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina. em filme.

As principais bandas do infravermelho da amina estão relacionadas na abaixo:

Tabela 10 – Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina.

| Posição da banda (cm ⁻¹) | Atribuição |
|--------------------------------------|--------------------------|
| 3100-3000 | ? (C-H _{Ar}) |
| 2850-2800 | ? (C-H _{Alif}) |
| 1570 | ? (C=C _{Ar}) |
| 1474 | ? (C=N _{Ar}) |
| 760 | ? (C-H _{py}) |

4.3.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H)

Comparando o espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina mostrado na figura 12 com o da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina (figura 10) observamos que o sinal em 3,81 ppm referente ao H_5 da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina, pela integração apresentava 1H, no espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina este sinal aparece um pouco mais deslocado em 3,98 ppm com 2H, evidenciando que a redução de imina para amina ocorreu. Além disso, no espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina havia dois sinais em 2,38 e 3,22 ppm referentes aos átomos de hidrogênio H_8 e H_6 respectivamente, enquanto que no espectro da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina estes sinais aparecem como um único sinal em 2,78 ppm com 4H como relacionado na tabela 11, devido à mudança nas vizinhanças.

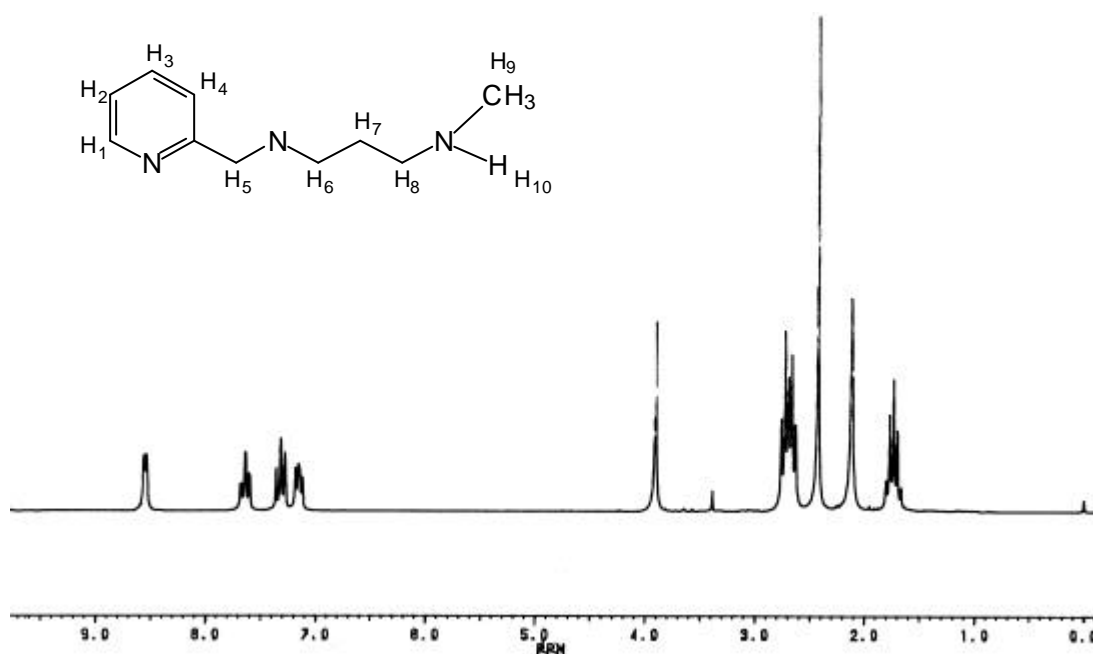


FIGURA 12 - Espectro de RMN ^1H da N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina em CDCl_3 (200MHz)

Tabela 11 – Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H da amina N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina

| Posição δ_{H} (ppm) | Atribuição |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 1,72 | H_7 (m, 2H) |
| 2,11 | H_5 (s, 2H) |
| 2,43 | H_9 (s, 3H) |
| 2,78 | H_8 e H_6 (m, 4H) |
| 3,98 | H_{10} (s, 1H) |
| 7,18 | H_3 (m, 1H) |
| 7,37 | H_4 (m, 1H) |
| 7,71 | H_2 (m, 1H) |
| 8,64 | H_1 (d, 1H) |

4.3.4 Caracterização do ligante H_2L

4.3.4.1 Espectroscopia no infravermelho (IV)

Na figura 13 mostrada abaixo apresenta-se o espectro de IV do ligante final H_2L .

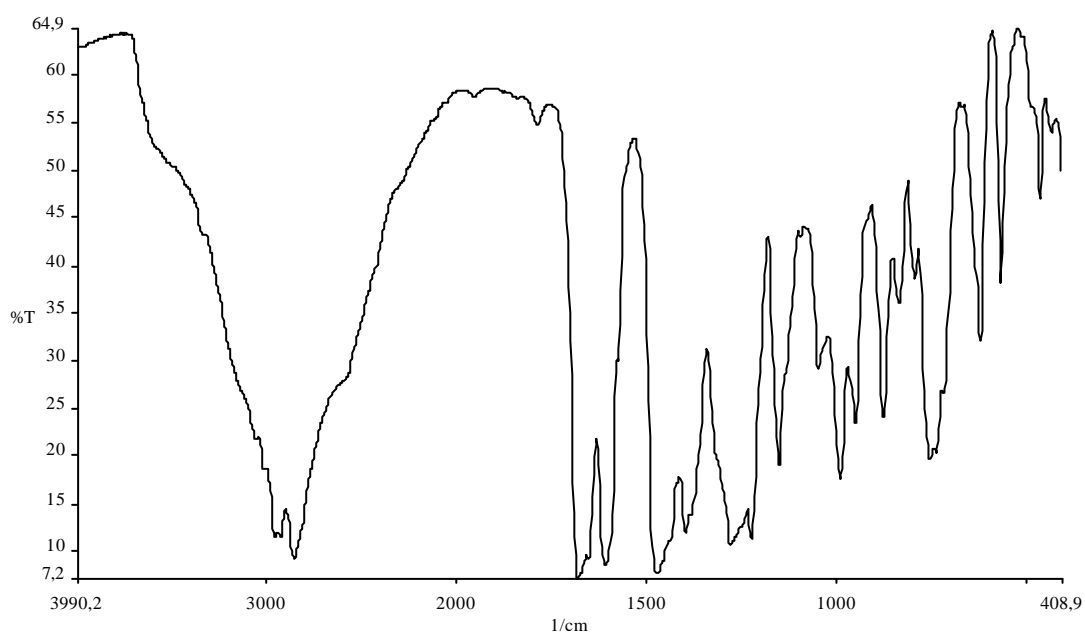


FIGURA 13 - Espectro no IV do H_2L em filme.

No espectro de IV do H₂L assim como no espectro do precursor CMFF, a banda de deformação axial da ligação C=O aparece em 1677 cm⁻¹ devido à conjugação do aldeído com o anel aromático, além dessa banda, o espectro apresenta bandas características de anel aromático, de anel piridínico e outras bandas relevantes relacionadas na tabela 12 que indicam que o H₂L foi formado.

Tabela 12 – Principais bandas e atribuições observadas no espectro no IV do H₂L

| Posição da banda (cm ⁻¹) | Atribuição |
|--------------------------------------|---------------------------|
| 3049 | ? (C-H _{Ar}) |
| 2922 | ? (C-H _{Alif}) |
| 2849 | ? (C-H _{Ald}) |
| 1677 | ? (C=O _{Ald}) |
| 1607 | ? (C=N) |
| 1470 | ? (C=C) |
| 1396 | d (OH _{fenol}) |
| 1150 | ? (C-N _{Alif}) |
| 1223 | ? (C-O _{fenol}) |
| 754 | d (C-H _{Ar}) |

4.3.4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H)

Os deslocamentos químicos obtidos a partir do espectro de RMN ¹H e os acoplamentos observados no experimento COSY 2D permitiram confirmar a obtenção do ligante H₂L e identificar os sinais dos átomos de hidrogênio metílicos, metilênicos, aromáticos e o hidrogênio dos grupos aldeído. A integração dos sinais é compatível com o número de átomos de hidrogênio, tanto aromáticos quanto alifáticos, esperado para o ligante em questão. Para tal, tomou-se por base a sinal em 10,26 ppm que é característico do grupo funcional aldeído e, neste caso, corresponde a 2 átomos de hidrogênio. Os dados referentes a esta análise estão mostrados na tabela 13 e a figura 14 mostra o espectro de RMN ¹H com a identificação dos átomos de hidrogênio, destacando a expansão feita entre 7,10 e 7,70 ppm. Entre os sinais do espectro aparece um

sinal em 5,29 ppm referente ao solvente residual (CH_2Cl_2) utilizado durante a síntese do ligante.

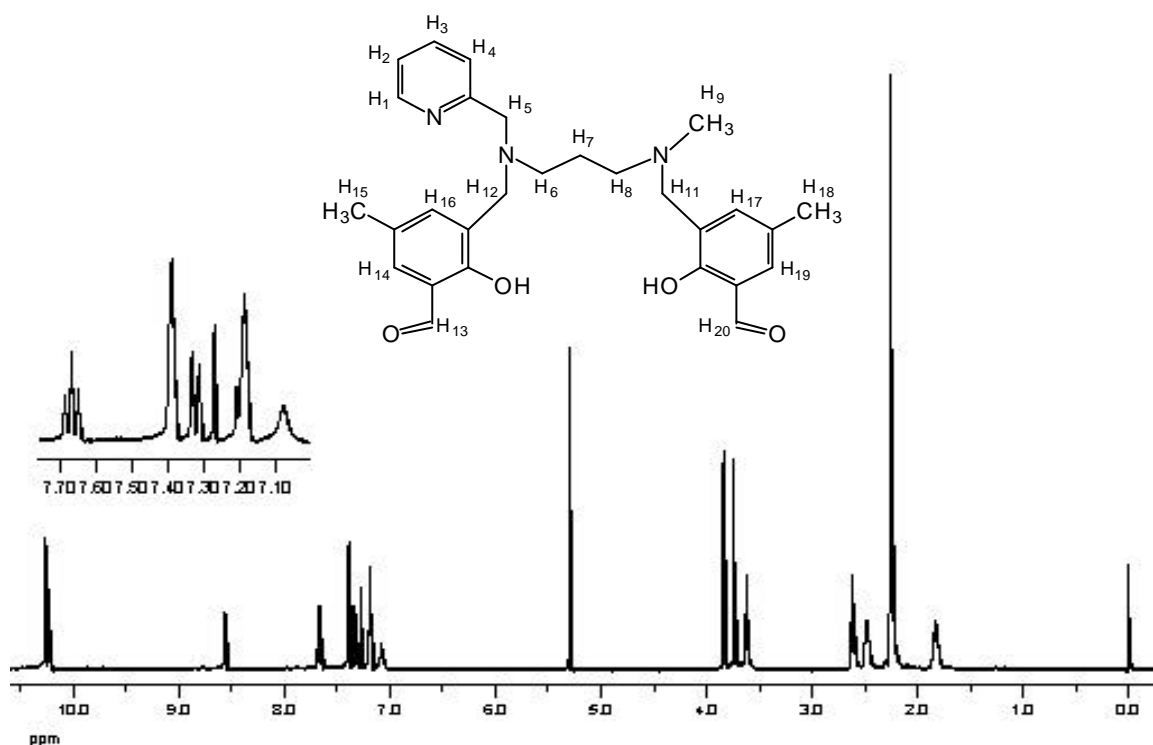


FIGURA 14 - Espectro de RMN ^1H do H_2L em CDCl_3 (400 MHz).

Tabela 13 – Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H do H_2L

| Posição δ_{H} (ppm) | Atribuição |
|-----------------------------------|---|
| 1,82 | H_7 (t, 2H; 7 Hz) |
| 2,23 | H_9 (s, 3H) |
| 2,26 | H_{15} e H_{18} (s, 6H) |
| 2,46 | H_8 (t, 2H; 7 Hz) |
| 2,61 | H_6 (t, 2H; 7 Hz) |
| 3,61 | H_{11} (s, 2H) |
| 3,74 | H_{12} (s, 2H) |
| 3,84 | H_5 (s, 2H) |
| 7,10 à 7,70 | $\text{H}_2, \text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_{14}, \text{H}_{16}, \text{H}_{17}$ e H_{19} (m, 7H) |
| 8,56 | H_1 (dd, 1H; 14 Hz) |
| 10,26 | H_{13} e H_{20} (d, 2H; 5 Hz) |

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram sintetizados com bons rendimentos os precursores HMB (2-hidroxi-5metilbenzaldeído) e o CMFF 2-clorometil-4metil-6-formil-fenol, também a N-Metil-N'-(2-piridil-metileno)propano-1,3-diamina e a N-Metil-N'-(2-piridil-metil)propano-1,3-diamina e o ligante final H_2L , os mesmos foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear de próton, apresentando um ótimo grau de pureza.

Como perspectivas futuras, o ligante poderá ser utilizado para complexar metais trivalentes como os metais Ga(III), Gd(III) e In(III), que são metais de interesse farmacológico, para posterior caracterização e possível utilização como fármacos inorgânicos em medicina nuclear como radiofármacos e ressonância magnética de imagem como agente de contraste. O ligante também poderá ser utilizado como precursor de fármacos bifuncionais, pois o mesmo permite o acoplamento de diferentes substituintes que podem modificar propriedades como solubilidade e lipofilicidade. E ainda, acoplar ao ligante cadeias peptídicas e assim modificar de forma importante a propriedade de biodistribuição.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VOLKERT, W. A., HOFFMAN, T. J., Therapeutic radiopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2269-2292, 1999.
2. JURISSON, S. S., LYDON, J. D., Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2205-2218, 1999.
3. ORVIG, C., ABRAMS, M. J., Medicinal inorganic chemistry: introduction. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2201-2203, 1999.
4. JURISSON, S., BERNING, D., JIA, W., MA, D., Coordination compounds in nuclear medicine. **Chemical Reviews**, v.93, p. 1137-1156, 1993.
5. LAUFFER, R. B., Paramagnetic metal complexes as water proton relaxation agents for NMR. **Chemical Reviews**, v.87, p. 901-927, 1987.
6. BLOWER, P. J., LEWIS, J. S., ZWEIT, J., Copper radionuclides and radiopharmaceuticals in nuclear medicine. **Nuclear Medicine & Biology**, v. 23, p. 957-980, 1996.
7. GOLDENBERG, M.D., The role of radiolabeled antibodies in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: the coming of age of radioimmunotherapy. **Critical Reviews in Oncology Hematology**, v.39, p. 195-201, 2001.
8. ROCHA, A. F. G., **Medicina nuclear**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979.
9. ANDERSON, C., WELCH, M. J., Radiometal-labeled agents (non-technetium) for diagnostic imaging. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2219-2234, 1999.
10. LIU, S., EDWARDS, D. S., ^{99m}Tc-Labeled small peptides as diagnostic radiopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2235-2268, 1999.
11. WILDING, I. R., COUPE A. J., DAVIS S.S., The role of g-scintigraphy in oral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 46, p. 103–124, 2001.

12. LARDION, D., WEDER, W., HANY, T. F., Staging of non small cell lung cancer with integrated positron emission tomography. **Journal of medical.** v. 348, p. 2500-2507, 2003.

13. SUN, Y. Z., MARTELL, A. E., MOTEKAITIS, R. J., WELCH, M. J., Synthesis and stabilities of the Ga(III) and In(III) chelates of a new diaminodithiol bifunctional ligand. **Tetrahedron**, v. 54, p. 4203-4210, 1998.

14. WANG, S., LEE, R. J., GREEN, M. A., LOW, P. S., Synthesis, purification and tumor cell uptake of Ga-67-deferoxamine-folate, a potential radiopharmaceutical for tumor imaging. **Bioconjugate Chemistry**, v. 7, p. 56-62, 1996.

15. RAYMOND, K. N., PIERRE, V. C., Next generation, high relaxivity gadolinium MRI agents. **Bioconjugate Chemistry**, v. 16, p. 3-8, 2005.

16. TÓTH, E., BURAI, L., MERBACH, A. E., Similarities and differences between the isoelectronic Gd(III) and Eu(II) complexes with regard to MRI contrast agent applications. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 216-217, p. 363-382, 2001.

17. AIME, S., BOTTA, M., FASANO, M., TERRENO, E., Prototropic and water-exchange processes in aqueous solutions of Gd(III) chelates. **Accounts of chemical research**, v. 32, p. 941-949, 1999.

18. AIME, S., CALABI, L., CABALLOTTI, C., GIANOLIO, E., GIONENZANA, G. B., LOSI, P., MAIOCCHI, A., PALMISANO, G., SISTI, M., [Gd -AAZTA]: A new structural entry for an improved generation of MRI contrast agents. **Inorganic Chemistry**, v. 43, p. 7588-7590, 2004.

19. AIME, S., CASTELLI, D. D., FEDELI, F., TERRENO, E., A paramagnetic MRI-CEST agent responsive to lactate concentration. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, v. 124, p. 9364-9365, 2002.

20. CARAVAN, P., ORVIG, C., Tripodal aminophenolate ligand complexes of aluminium(III), gallium(III), and indium(III) in water. **Inorganic Chemistry**, v. 36, p. 236-248, 1997.

21. WONG, E., CARAVAN, P., LIU, S., RETTING, S. J., ORVIG, C., Selectivity of potentially hexadentate amine phenols for Ga^{3+} and In^{3+} in aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 35, p. 715-724, 1996.
22. LIU, S., WONG, E., RETTING, S. J., ORVIG, C., Hexadentate N_6O_3 amine phenol ligands for group 13 metal ions: evidence for intrastrand and interstrand hydrogen-bonds in polydentate tripodal amine phenols, **Inorganic Chemistry**, v. 32, p. 4268-4276, 1993.
23. COMBLIN, V., GILSOUL, D., HERMANN, M., HUMBLET, V., JACQUES, V., MESBAHI, M., SAUVAGE, C., DESREUX, J. F., Designing new MRI contrast agents: a coordination chemistry challenge. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 185-186, p. 451-470, 1999.
24. KARSTEN, P., NEVES, A., BORTOLUZZI, A. J., LANZMASTER, M., DRAGO, V., synthesis, properties and phosphatase-like activity of the first heterodinuclear $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{II}}$ complex with the unsymmetric ligand H_2BPBPMP as a model for the PAP in sweet potato. **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 4624-4626, 2002.